

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO PÓLEN APÍCOLA COMERCIALIZADO NO ESTADO DE SÃO PAULO

LEONARDO ORLANDI DOS **SANTOS**¹, NELIANE F A **SILVEIRA**² ROSANGELA
S. F **LEITE**³ RENATA GALHARDO **BORGHINI**⁴

Nº 10215

RESUMO

O pólen apícola é o resultado da aglutinação do pólen das flores, efetivada por abelhas operárias, mediante néctar e suas substâncias salivares, o qual é recolhido na entrada da colméia. Esse produto vem ganhando mercado como complemento nutricional e de cosmética, porem, a literatura quanto a inocuidade do produto, ainda é bastante escassa. O presente estudo teve como objetivo específico, avaliar a qualidade microbiológica do pólen apícola *desidratado* comercializado em lojas de produtos naturais do Estado de São Paulo. Os parâmetros microbiológicos empregados nesta avaliação foram exames para *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, coliformes a 45°C, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, bolores e leveduras, e microorganismos sulfitos redutores. De acordo com os dados obtidos verificou-se que as amostras analisadas, se encontram dentro dos padrões microbiológicos adotados para o produto (ANVISA, 2001) e se mostraram-se isentas dos patógenos: *Salmonella* sp, *Escherichia coli*, e *Staphylococcus aureus*; porem revelaram uma população marcante, do grupo microbiano bolores e leveduras seguido da bactéria esporulada aeróbia, *Bacillus cereus*. Devido a uma população expressiva de fungos encontrada nas amostras de pólen desidratado analisadas, análise para aflatoxinas foi realizada nessas amostras porem não houve detecção dessa toxina nas mesmas.

1. Bolsista CNPq: Graduação em Farmácia, Universidade de São Francisco, Campinas-SP, ✉
leonardorlandi@gmail.com

2. Orientador: Pesquisador, MICROBIOLOGIA/CCQA/ITAL, Campinas-SP

3. Colaborador: Pesquisador, ECONOMISTA.ITAL, Campinas-

4. Colaborador .Pesquisador, Polo Regional de Pindamonhangaba-SP

ABSTRACT

The pollen assemblage is the result of pollen from flowers, effected by worker bees through nectar and their salivary substances, which is collected at the entrance of the hive. This product has been gaining market as a nutritional supplement and cosmetic products, however, the literature regarding the safety of the product is still quite scarce. The present study has the specific goal of assessing the microbiological quality of dehydrated pollen sold in health food stores in the State of São Paulo. The microbiological tests used in this assessment were: *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, coliforms at 45°C, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, molds and yeasts, and sulphite reducing microorganisms .. According to the data obtained it was found that the samples analyzed, are within the standards established by the standards choosen for the product, (ANVISA, 2001) and free of pathogens: *Salmonella* sp, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* but showed a marked population, of microbial group molds and yeasts, followed by aerobic sporulated bacteria, *Bacillus cereus*. Due to a large population of fungi found in the samples, analysis of aflatoxins was performed on these samples but there was no detection of this toxin in them.

INTRODUÇÃO

Os produtos da colméia sempre foram um alimento de alto valor nutritivo para o homem, pois no inicio da sua história o mel era saboreado pelo doce que apresenta e também como um modo de saciar a fome. Porém, não se tinha idéia que os favos com o mell continham própolis, pólen, geléia real e larvas de abelhas, e que o veneno da picada poderia servir como remédio para problemas reumáticos e artríticos. Há 600 anos atrás, os hindus utilizavam o mel como alimento e a própolis como medicamento para a cicatrização de feridas (LEGLER, 2007).

O pólen apícola é um pó fino e colorido produzidos nos órgãos masculinos em plantas floríferas e. que, quando coletados pela abelha para sua alimentação é umedecido com a saliva das mesmas para serem aglutinados formando um grão e assim serem transportados até a colméia, como fonte de nutrientes . O apicultor pode apropriar-se de uma parte do pólen coletado pelas abelhas e para tal utiliza aparelhos denominados coletores de pólen, armadilhas de pólen ou ainda caça-pólen, que retiram parte das bolotas presentes nas corbículas antes que as abelhas penetrem na colméia (ALVES et al., 1997). Essas bolotas permanecem retidas em gavetas e são recolhidas pelo apicultor

em intervalos pré-determinados, para serem posteriormente processadas. As etapas do processamento do pólen são: coleta, congelamento, secagem, limpeza e envase, obtendo-se, desse modo, o pólen apícola desidratado, utilizado na alimentação humana e animal (SALOMÉ e SALOMÉ, 1998).

No Brasil, o interesse pela produção do pólen, iniciou-se no final da década de 80. A partir desse momento, observou-se um declínio com posterior retomada da produção e comercialização no final da década de 90 (CASTRO et al, 2002).

Segundo SCHMIDT (1996), a composição nutricional média do pólen apícola é de 23,7% de proteínas; 27% de carboidratos; 4,8% lipídios; além de minerais, entre os quais encontra-se fósforo, potássio, cálcio, ferro, zinco, sódio, magnésio, manganês e cobre; e vitaminas, dentre as quais encontra-se a vitaminas C, além de carotenóides, como o β -caroteno, que é precursor da vitamina A, e vitaminas do complexo B (tiamina, niacina, riboflavina, piridoxina, biotina, ácido pantotênico e ácido fólico). Verifica-se, desta forma, o elevado valor nutritivo do produto. De acordo com Silva et al (2009), produtos alimentícios como biscoitos enriquecidos com pólen apícola, já estão sendo processados experimentalmente. Segundo CAMPOS et al. (1996), o uso do pólen apícola está associado a muitos benefícios para o organismo humano, entre os quais estão o combate ao estresse oxidativo e a atividade antibiótica. Por outro lado, a inocuidade alimentar, é um aspecto extremamente relevante a ser considerado em um alimento. De acordo com Salomé e Salomé (1998), o pólen apícola desidratado, comum ao consumo humano, emprega temperaturas de secagem até 42°C, com bandejas sobrepostas e correntes de ar quente. Essa temperatura é muito branda, e pode permitir crescimento microbiano. A avaliação da qualidade microbiológica de um produto fornece informações que permitem avaliá-lo quanto às condições de processamento, armazenamento e distribuição para o consumo, sua vida útil e potencial de risco à saúde da população, isto é, potencial de ser um veículo de transmissão de doenças de origem alimentar. (FRANCO, 1996a). A literatura em relação a inocuidade do pólen apícola em nosso país é ainda muito escassa. Dessa forma, o presente trabalho objetivou verificar a microbiota relevante do pólen apícola desidratado encontrado no comércio de alguns municípios do Estado de São Paulo, bem como avaliar microbiologicamente esse produto, através da presença de patógenos, contaminantes e suas toxinas.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de pólen apícola foram adquiridas em lojas de produtos naturais nas cidades de : Pindamonhangaba, Piracicaba, Campinas, Artur Nogueira. Após serem coletadas, as amostras foram enviadas a Unidade Laboratorial de Referência de Microbiologia do Centro de Ciência e Qualidade dos Alimentos- CCQA do ITAL em Campinas-SP para as análises pertinentes.

. **Análise de Atividade de água (Aw):** foi medida por meio do medidor automático Aquqlab. Serie 3TE A atividade de água foi expressa pela razão pressão de vapor da água do alimento sobre pressão de vapor da água pura.

.Análises microbiológicas e de micotoxinas

Para análises microbiológicas foram empregadas técnicas preconizadas pela *American Public Health Association (APHA) Compendium for Microbiological Analysis of Foods* (DOWES e ITO, 2001) e pelo Manual Bergey de Bacteriologia (SNEATH, 1986). As análises de *Salmonella* sp foram realizadas pelo método rápido de reação de polimerase em cadeia (PCR) pela metodologia Bax. Para esta detecção também utiliza-se os procedimentos descritos no protocolo ISO 6579 (2002).

Em virtude da inexistência de parâmetros microbiológicos específicos para o pólen apícola no Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos da ANVISA (BRASIL, 2001b), pesquisou - se os microrganismos referentes aos grupos de alimentos similares (grupo 10, farinhas, massas alimentícias, produtos para panificação, industrializados e embalados, e similares, sub item n, que inclui, granola e mistura de cereais não compactados, com ou sem adições e similares) Os parâmetros microbiológicos e respectivos padrões para amostra indicativa estabelecidos para esse grupo de alimentos são: *Bacillus cereus*, 5×10^3 UFC/g, *Staphylococcus aureus*, 10^3 UFC/g, coliformes a 45°C, 5×10^2 UFC/g, (de preferencia, examinando para o principal componente deste grupo, a bactéria *Eschericia coli* e *Salmonella* sp, ausência em 25 g; Também foi pesquisada a população de bolores e leveduras, indicadores de contaminação da matéria prima e produto final, com baixa atividade de água e produção de micotoxinas (aflatoxinas), além dos microrganismos patogenicos esporulados clostridios sulfitos redutores. As análises para micotoxinas foram realizadas ,segundo a metodologia descrita em : SOARES, L.M. & RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone, and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi-toxin thin-layer chromatographic method. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, Washington, v. 72, p. 22-26, 1989, .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análises microbiológicas

.Os resultados obtidos nessas análises se encontram na **Tabela 1**.

Tabela 1 .Resultados de análise microbiológica de pólen comercial coletado em diferentes lojas do Estado de São Paulo

TABELA1. Análise Microbiológica de amostras de pólen comercializado em São Paulo.

Amostra	<i>Bacillus cereus</i> *	Bolores e Levedura*	Clostrídios Sulfito Redutores*	Coliformes Totais*	<i>Escherichia coli</i> *
SIF1020	$< 10^2$	$9,7 \times 10^3$	<10	<10	<10
SIF1598	1×10^2	7×10^2	<10	<10	<10
LOTE001	1×10^2	3×10^2	<10	<10	<10
SIF3503	$<10^2$	$4,5 \times 10^3$	<10	<10	<10
SIF3250	1×10^2	$9,5 \times 10^3$	<10	4	<10
SIF R245	1×10^2	$< 10^2$	<10	<10	<10
SIF2292	1×10^2	$7,6 \times 10^3$	<10	<10	<10
SIF3670	5×10^2	$9,5 \times 10^3$	4×10	<10	<10
SIF2483	$<10^2$	$8,6 \times 10^3$	<10	<10	<10
SIF3733	$<10^2$	6×10^2	<10	<10	<10

*Resultados obtidos em UFC/g.

Conforme pode ser visto na **Tabela 1**, as amostras comerciais analisadas estão de acordo com os padrões adotados para este estudo do pólen apícola. Nota-se no entanto uma população mais elevada de bolores e leveduras (10^2 - 10^3 UFC/g), em comparação aos outros parâmetros microbiológicos estudados.

Não foi detectado o patógeno *Salmonella* sp, em 25 g de produto, nem o indicador de contaminação fecal, *Escherichia coli* acima de 5×10^2 UFC/g, nem a bactéria *S. aureus*, que indica higiene da manipulação durante e pós processamento. Os níveis populacionais de *Bacillus cereus*, detectados nas amostras não ultrapassaram o nível estipulado de 10^3 UFC/g, padrão adotado para este estudo.

O exame para bolores e leveduras não é contemplado pelo item citado dessa legislação.(RDC12/01), como também não é contemplado em nenhum outro produto similar. Conforme pode ser observado na **Tabela 1**, a população de fungos esteve presente, em 9 das 10 amostras comerciais analisadas, com níveis acima de 10^2 UFC/g

de produto, perfazendo um total de presença em 90% das amostras estudadas. Dessa forma, os fungos mostraram ser o grupo microbiano de maior relevância no pólen apícola desidratado.

Na **Tabela 2**, encontram-se os resultados para atividade de água e micotoxinas (aflatoxinas) das amostras comerciais de pólen apícola

Tabela 2. Atividade de água e níveis de aflatoxinas em amostras de pólen comercial adquiridos no comércio do Estado de São Paulo

Amostra	Atividade de água	Níveis de Aflatoxinas			
		(B1	B2	G1	G2)
		(ppb)			
SIF1020	0,333	nd*			
SIF1598	0350	nd*			
LOTE001	0,336	nd*			
SIF3503	0,362	nd*			
SIF3250	0,379	nd*			
SIF R245	0,542	nd*			
SIF2292	0,394	nd*			
SIF3670	0,410	nd*			
SIF2483	0,442	nd*			
SIF3733	0,465	nd*			

*nd= não detectado- nenhum tipo de aflatoxina determinado

Os baixos valores de atividade de água observados nas amostras, teoricamente não são ideais para se permitir qualquer crescimento microbiano nesse substrato; no entanto, a população de fungos foi elevada, observando também um crescimento bacteriano, especialmente das bactérias esporuladas, (**Tabela1**) Algumas hipóteses podem ser levantadas a respeito desse fato: hipótese(a) esse produto, utiliza temperaturas de secagem ao redor de 40⁰C, e pode ter permitido que fungos e algumas bactérias, que são mesófilas, se desenvolvessem no produto durante o processo de secagem. Essa contaminação provavelmente foi originada no campo, e pode ter sido aumentada no processo. Convém mencionar que o pólen apícola, por ser um substrato nutricionalmente rico, favorece a recuperação de contaminantes biológicos. FRANCO (1996), cita que temperaturas de processamento, mais baixas, especialmente abaixo de 100⁰ C, são muitas vezes insuficientes para destruir esporos bacterianos presentes em alimentos

processados; hipótese (b) após o acondicionamento, o material utilizado para embalagem, pode ter potencializado uma condensação de água em alguma parte da amostra, mesmo imperceptível, aumentando a umidade do produto, o que permitiria o desenvolvimento microbiano.

Conforme pode ser observado na **Tabela 2**, não foram detectadas a presença de aflatoxinas nas amostras de pólen apícola adquiridas em lojas do Estado de São Paulo. Apesar dessa detecção não ter ocorrido nas amostras estudadas, não se pode afirmar, com base nesses dados, que o pólen é um alimento considerado seguro não sendo classificado como veículo transmissor de micotoxinas ao consumidor. Grãos de pólen podem vir contaminados do campo, já com a presença das toxinas fúngicas. Dessa forma, o emprego de boas práticas de cultivo, como controle de insetos, evitar contaminação do material por matéria orgânica, além da higiene do processo, e do manipulador são recomendáveis. Estudos mais específicos do pólen apícola, com foco na embalagem e otimização de processo, abrangendo toda cadeia produtiva, são tópicos recomendáveis em futuras investigações científicas.

CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos, permitiu as seguintes conclusões::

Bolores e leveduras, foram os microrganismos mais relevantes encontrados no pólen comercial adquirido em algumas lojas do Estado de São Paulo.

A microbiota do pólen desidratado mostrou ser composta dos seguintes microrganismos: bolores e leveduras, (fungos), seguidos das bactérias esporuladas *Bacillus cereus*, e população mais reduzida de clostrídios sulfitorredutores.

Os patógenos relevantes em saúde pública, *Salmonella* sp, *S.aureus*, *E coli*, não foram detectados nas amostras de pólen comerciais estudadas

Considerando os parâmetros microbiológicos adotados pela ANVISA para produtos similares, as determinações microbiológicas realizadas nas amostras de pólen comercial mostraram que as mesmas estão de acordo com esses padrões.

Micotoxinas (aflatoxinas), não foram detectadas nas amostras analisadas. Esses resultados não classificam definitivamente o produto como seguro; para isso, estudos mais detalhados em toda cadeia produtiva do pólen apícola desidratado são recomendáveis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, M.L.T.M.F.; MORETI, A.C.C.C.; SILVA, E.C.A.; SILVA, R.M.B.; TEIXEIRA, E.W. Quantidade diária de pólen coletado por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) usando diferentes modelos de coletores. Boletim da Indústria Animal, v. 54, n.1, p.97-102, 1997.
- CAMPOS, M.G.; CUNHA, A.; MARKHAM, K.R. Bee-Pollen: composition, properties, and applications. In: MIZHAHI, A.; LENSKY, Y. (ed) **Bee Products: properties, applications and apitherapy**. New York: Plenum Press, 1996. chap. 12, p. 93-100.
- DOWNES, F.P.; ITO, K. (ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. American Public Health Association Washington, D. C., 2001.
- FRANCO, B.D.G.M. Fatores intrínsecos e extrínsecos que controlam o desenvolvimento microbiano nos alimentos. In: FRANCO, B.D.G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996c. cap. 2, p. 13-26.
- LENGLER, S. **Os Produtos das Abelhas e seus Efeitos na Saúde Humana**. Artigo Técnico - CBA. Departamento de Zootecnia. Rio Grande do Sul, 2007.
- SALOMÉ, J.A.; SALOMÉ, L.G. **Manual prático de produção de pólen apícola**. Santa Catarina: EPAGRI, 1998, 54 p.
- SCHMIDT, J.O. Bee Products: chemical composition and application. In: MIZHAHI, A.; LENSKY, Y. (ed) **Bee Products: properties, applications and apitherapy**. New York: Plenum Press, 1996. chap. 3, p. 15-26.
- SILVA,E.V.C, OLIVEIRA,E.M; GOMES,L.M. Elaboração e caracterização de biscoito enriquecido com pólen coletado pelas abelhas *apis mellifera* .**Higiene Alimentar**,23 (170/171) p.171-177, 2009.
- SNEATH, P.H.A. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, v.2, 1986.
- SOARES, L.M. & RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone, and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi-toxin thin-layer chromatographic method. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, Washington, v. 72, p. 22-26, 1989, .